



БЕЛЫЕ НОЧИ

Петербургский международный
онкологический форум



**НМИЦ ОНКОЛОГИИ
ИМ. Н.Н. ПЕТРОВА**

Минздрава России

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛИБРЕНА И ПРОТАМИНА СУЛЬФАТА В КАЧЕСТВЕ ТРАНСДУЦИРУЮЩИХ АГЕНТОВ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ЛИМФОЦИТОВ, НЕСУЩИХ ХИМЕРНЫЙ АНТИГЕННЫЙ РЕЦЕПТОР

Авторы: А.С. Безруков, А.О. Пестрикова, С.В. Попова, Е.В. Соболева, Дормидонтова С.М., Н.В. Исаева, К.А. Воробьев



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Кировский научно - исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико - биологического агентства», г. Киров

АКТУАЛЬНОСТЬ

Для получения Т-клеток с химерным антигенным рецептором необходима генетическая модификация Т-лимфоцитов путём трансдукции вирусными частицами. Без использования «усиливающих» реагентов число успешных модификаций составляет от 1 до 5% общего числа клеток [1]. Повышение эффективности внедрения вирусных частиц в клетки при наработке CART-лимфоцитов возможно за счёт применения различных трансдуцирующих агентов, например полибрена — полимерного катиона, нейтрализующего отталкивание между вирионом и модифицируемой Т-клеткой. К ограничениям его использования относятся высокая стоимость и отсутствие производства на территории РФ. В качестве альтернативы возможно использование протамина сульфата — высококатионного пептида, производимого в РФ, усиливающего трансдукцию Т-лимфоцитов по аналогичному принципу.

ЦЕЛЬ

Сравнить эффективность трансдукции Т-лимфоцитов лентивирусными частицами при использовании полибрена и протамина сульфата в качестве вспомогательных агентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Т-лимфоциты выделяли из периферической крови доноров (n=8) с использованием набора EasySep Human T Cell Isolation Kit, клетки активировали ImmunoCult Human CD3/CD28/CD2 T cell Activator, культивирование проводили в биореакторе G-Rex6M на питательной среде ImmunoCult™-XF с добавлением интерлейкина-2 (10 нг/мл). Для получения CART-клеток Т-лимфоциты трансдуцировали лентивирусным вектором методом спинфекции (центрифугировали 90 мин. при 1200 g, 32 °C) с добавлением полибрена (10 мг/мл, n=8) или протамина сульфата (50 мкг/мл, n=8). Эффективность трансдукции оценивали через 72 часа по связыванию конъюгированных с флуорохромом антител с шарнирной внеклеточной областью Т-клеточного рецептора IgG4 методом проточной цитометрии. Также регистрировали процент жизнеспособных клеток по связыванию 7-аминоактиномицина-D. Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, различие считали значимым при величине $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При применении полибрена и протамина сульфата эффективность трансдукции составила 14,5 % [8,9; 18,6] и 13,7 % [6,9; 15,4] соответственно ($p > 0,05$). Жизнеспособность CART-клеток после использования полибрена сохранялась на уровне 90,9 % [86,3; 93,75], протамина сульфата - 93,15 % [90,7; 93,9] ($p > 0,05$).

ВЫВОДЫ

Использование протамина сульфата обеспечивает сопоставимую с полибренем эффективность трансдукции Т-лимфоцитов лентивирусом и жизнеспособность, что свидетельствует о возможности его использования как альтернативного вспомогательного агента.

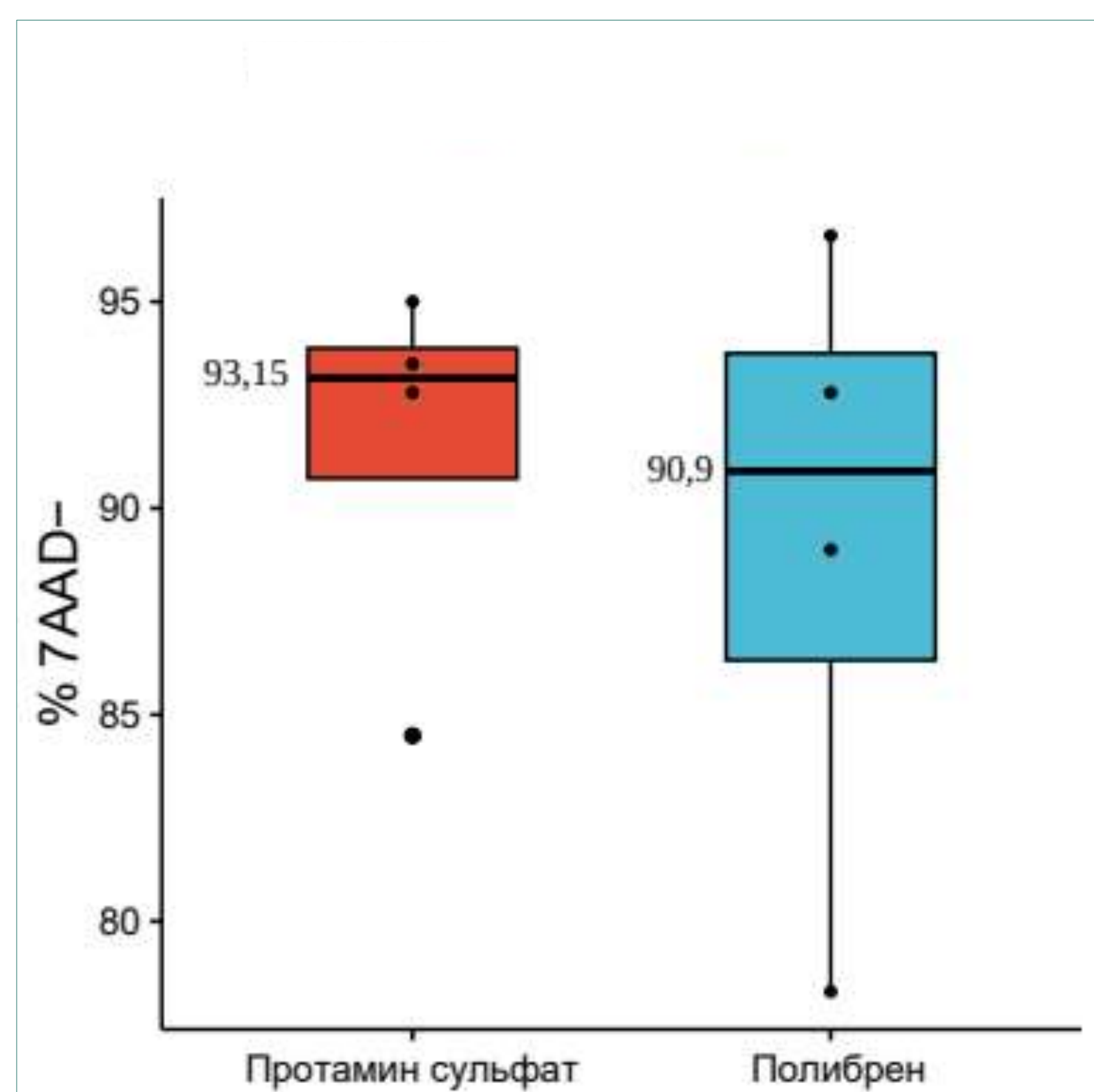


Рис.1. График различия жизнеспособности при применении исследуемых трансдуцирующих агентов

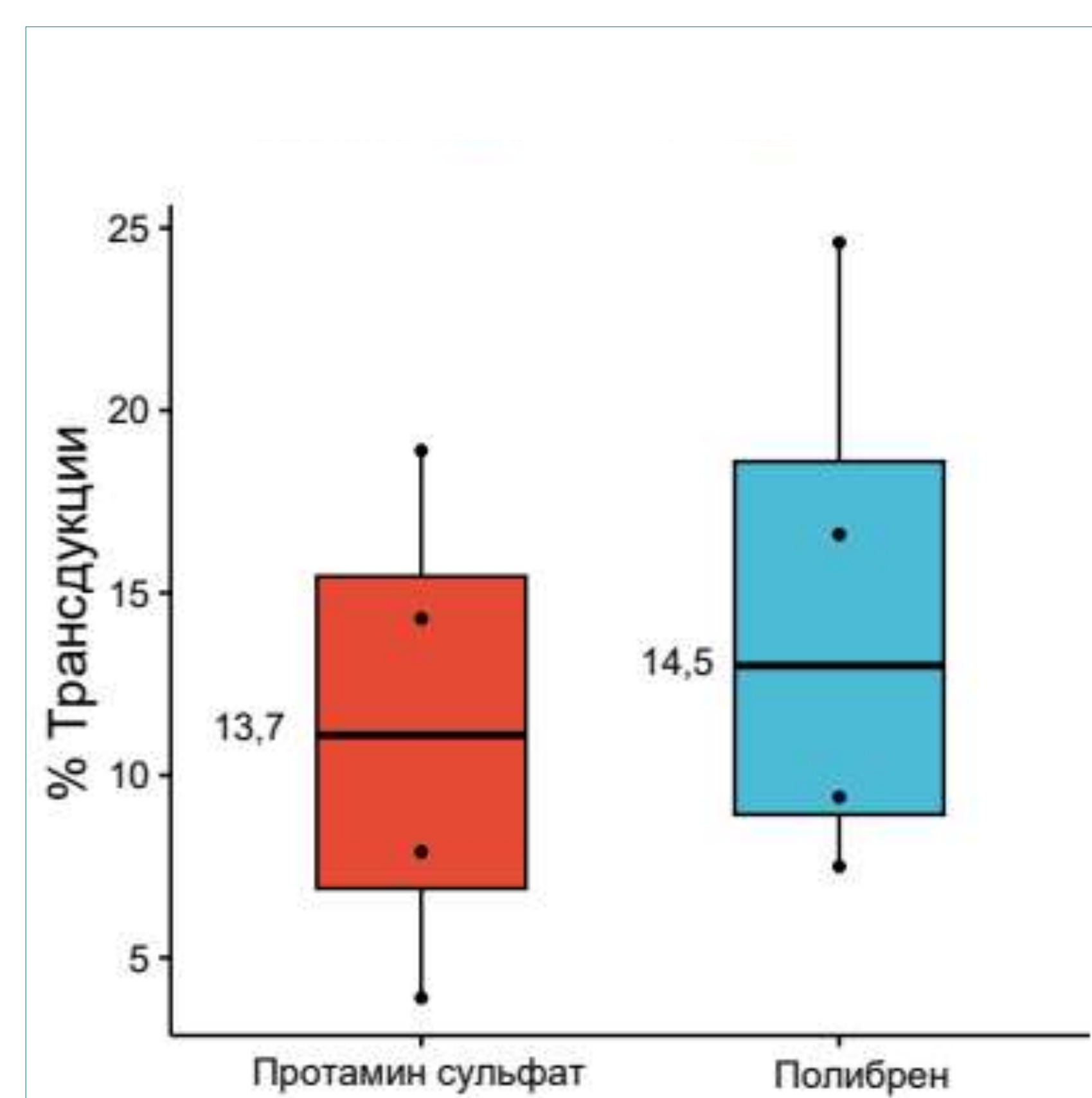


Рис.2. График различия эффективности трансдукции при применении исследуемых трансдуцирующих агентов